

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIOKSIDAN DARI  
FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL HERBA MENIRAN  
( *Phyllanthus niruri* L.)**

**NASKAH PUBLIKASI**



**Oleh :**

**RIAN RIZA WARDANI  
K 100 100 152**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2014**

## PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

### ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI SEMIPOLAR EKSTRAK ETANOL HERBA MENIRAN ( *Phyllanthus niruri* L.)

Oleh :

**RIAN RIZA WARDANI**

**K100100100152**

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : Sabtu

Tanggal : 24 Mei 2014

Mengetahui,

Fakultas Farmasi

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Dekan



Azis Saifudin, Ph.D., Apt

Penguji I

Dedi Hanwar, M.Si., Apt.

Penguji II

Ratna Yuliani, M. Biotech. St.

Pembimbing Utama

Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

Mahasiswa

Rian Riza Wardani

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIOKSIDAN DARI  
FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL HERBA MENIRAN  
(*Phyllanthus niruri* L.)**

***ISOLATION and IDENTIFICATION of ANTIOXIDANT ACTIVE COMPOUNDS of  
ETHYL ACETATE FRACTION of ETHANOL EXTRACT of HERBA MENIRAN  
(Phyllanthus niruri L.)***

**Rian Riza Wardani, Muhammad Da'i, Azis Saifudin**  
*Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Jl Ayani Tromol I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102  
E-mail : ryanryza7@gmail.com*

**ABSTRAK**

Radikal bebas merupakan suatu senyawa yang diproduksi dalam keadaan normal pada proses metabolisme. Protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat dapat dirusak oleh reaktivitas kimia dari radikal bebas. Kerusakan tersebut jangka panjang dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif. Penggunaan antioksidan mampu menangkap radikal bebas tersebut. Tumbuhan yang dapat menghasilkan antioksidan salah satunya adalah meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan herba meniran dengan metode DPPH dan mengetahui kandungan senyawa dengan metode spektroskopi  $^1\text{HNMR}$ .

Metode yang digunakan untuk isolasi adalah maserasi, fraksinasi dengan metode enap tuang, kromatografi cair vakum, dilanjutkan kromatografi kolom tekan dan kromatografi preparatif. Hasil tiap fraksinasi dilakukan uji antioksidan dan hasil dari kromatografi preparatif dilakukan identifikasi  $^1\text{HNMR}$ .

Isolat fraksi etil asetat ekstrak etanol herba meniran berpotensi sebagai antioksidan dengan  $\text{IC}_{50}$  sebesar 5,849 ppm dan 0,770 ppm sementara pembanding vitamin E sebesar 6,848 ppm dan pada identifikasi  $^1\text{HNMR}$  isolat menunjukkan adanya senyawa kuersetin dari golongan flavonoid.

**Kata kunci:** Antiradikal, Identifikasi  $^1\text{HNMR}$ , Isolasi  $\text{IC}_{50}$ , *Phyllanthus niruri* L.

**ABSTRACT**

*A Free radical is a compound produced under normal circumstances on metabolic processes. Proteins, lipids, carbohydrates and nucleic acids can be damaged by chemical reactivity of free radicals. The long-term damage can lead to degenerative diseases. The use of antioxidants is able to capture the free radicals. Plants that can produce antioxidants naturally one is meniran (*Phyllanthus niruri* L.). this study was conducted to determine the antioxidant activity with DPPH of meniran herbs and know the content of compounds with  $^1\text{HNMR}$  spectroscopic methods.*

*The method used for isolation is maceration, fractionation methods ponder castings, vacuum liquid chromatography, column chromatography followed press and preparative chromatography. the result of each test performed fractionation of antioxidant and the results of preparative chromatography to indentify  $^1\text{HNMR}$ .*

*Isolates of ethyl acetate fraction of ethanol extract of meniran herb potential as antioxidants with  $\text{IC}_{50}$  of 5,849 ppm and 0,770 ppm while the comparison of vitamin E was 6,848 ppm and  $^1\text{HNMR}$  identification of isolates showed the presence of compounds of the flavonoids quercetin.*

**Key words :** *Antiradical, Identification of <sup>1</sup>HNMR, IC<sub>50</sub>, Isolation, Phyllanthus niruri L.*

## **PENDAHULUAN**

Radikal bebas merupakan suatu senyawa yang diproduksi dalam keadaan normal pada proses metabolisme (Hariyatmi, 2004). Protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat dapat dirusak oleh reaktivitas kimia dari radikal bebas (Suirta *et al.*, 2007). Kerusakan tersebut jangka panjang dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif (Temple, 2000). Resiko terjadinya penyakit tersebut dapat dikurangi dengan penggunaan senyawa antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas (Amrun *et al.*, 2007).

Tumbuhan yang dapat menghasilkan antioksidan alami salah satunya adalah meniran (*Phyllanthus niruri*) (Ahmeda *et al.*, 2009). Identifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol herba meniran dan fraksinya telah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Fraksi nonpolar (heksan), semipolar (etil asetat), dan polar (etanol) memiliki nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut adalah 282,835 ppm, 2,670 ppm, dan 8,853 ppm pada uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Saraswati, 2013). Hasil tersebut menunjukkan fraksi etil asetat yang diperoleh dengan fraksinasi mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan untuk isolasi dan identifikasi senyawa aktif pada fraksi etil asetat ekstrak etanol herba meniran yang berpotensi sebagai antioksidan.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat yang digunakan**

Pada penelitian ini dibutuhkan alat-alat berupa spektrofotometer UV–Vis (UV Mini 1240 SHIMADZU), Spektroskopi NMR kekuatan resonansi 500 Hz, *vacuum rotatory evaporator* (Laborota 4000 Heidolph), *glassware* (Pyrex), pipet volum (Pyrex), vortex, mikropipet (Socorex), pipet ukur (Pyrex), neraca analitik (A&D Co. Ltd.), lampu UV portable 254 nm dan UV 366 nm, serta seperangkat alat penyemprot.

### **Bahan yang digunakan**

Pada penelitian ini dibutuhkan bahan-bahan berupa herba meniran dari toko herbal akar sari (Surakarta), vitamin E, DPPH, etanol 70%, CD3OD, etil

asetat *p.a*, n-heksan *p.a*, metanol *p.a*, kloroform *p.a*, kertas saring, lempeng silika GF<sub>254</sub>, *yellow tips* dan *blue tips*, alumunium foil, aseton *p.a*, serta akuades.

### **Jalannya Penelitian**

#### **Persiapan Simplisia**

Herba meniran diperoleh dari toko herbal akar sari (Jl. Dr Rajiman 112 Solo).

#### **Isolasi dan Purifikasi Senyawa**

##### **a. Ekstraksi**

Herba meniran ditimbang sebanyak 1 kg, dimasukkan kedalam bejana untuk dilakukan maserasi. Herba direndam dengan 7000 mL etanol 70% selama 3 hari dengan sesekali digojog, hasil yang didapat disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat etanol. Filtrat dipekatkan dengan evaporator dan diuapkan diatas waterbath pada suhu 60°C sehingga didapatkan ekstrak kental meniran.

##### **b. Fraksinasi pertama menggunakan enap tuang**

Ekstrak sebanyak 20 gram diekstraksi sebanyak 3 kali dengan *n*-hexan @ 200 mL hingga diperoleh fraksi *n*-hexan 600 mL. Ampas kemudian disari dan diekstraksi kembali sebanyak 10 kali dengan etil asetat @ 200 mL hingga diperoleh fraksi etil asetat 2 L. Ampas kemudian disari dan diekstraksi kembali sebanyak 7 kali dengan etanol @ 200 mL sehingga diperoleh fraksi etanol sebanyak 1400 mL. Fraski yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan evaporator sehingga diperoleh fraksi kental *n*-hexan, etil astetat, dan etanol.

##### **c. Fraksinasi kedua menggunakan kromatografi vakum cair**

Kolom berdiameter 6 cm dan tinggi 14 cm disiapkan, kemudian dimasukan silika kolom katalog merck 7731 yang telah ditimbang sebanyak 221,19 gram. Silika dimampatkan dengan bantuan pompa vakum sehingga tidak ada rongga dalam kolom. Sebanyak 15 gram fraksi kental etil asetat diimpregnasi dengan 30 gram silika impreg katalog merck 7734 dan dimasukkan ke dalam kolom. Kolom dielusi dengan fase gerak kloroform : *n*-hexan (80:20) kemudian dengan peningkatan polaritas kloroform : metanol (9:1), kloroform : metanol (8:2), kloroform : metanol (7:3), kloroform : metanol (6:4), dan kloroform :

metanol (5:5) dielusi 3 kali sebanyak 350 mL. Fraksi yang ditampung sebanyak 130 mL tiap elusi. Hasil semua fraksi dianalisis menggunakan KLT dengan plat silika Gel 60 GF<sub>254</sub> dan dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (3:1). Fraksi yang memiliki kromatogram yang sama digabungkan dan kemudian dipekatkan menggunakan evaporator. Fraksi kental yang didapatkan dianalisis aktivitas antioksidannya dan fraksi paling aktif antioksidan difraksinasi dengan kromatografi kolom tekan.

**d. Fraksinasi ketiga menggunakan kromatografi kolom tekan**

Silika G 60 mesh 60-200 katalog merck 7731 dan kolom diameter 3 cm disiapkan. Silika yang telah diaktifkan dimasukkan kedalam kolom setinggi 25 cm, kemudian kolom dimampatkan dengan bantuan pompa vakum sehingga tidak ada rongga dalam kolom. Sebanyak 2 gram fraksi yang telah dipekatkan diimpregnasi dengan 4 gram silika impreg katalog merck 7734 dan dimasukkan ke dalam kolom. Elusi dilakukan menggunakan fase gerak dengan peningkatan polaritas yaitu n-heksan : etil asetat (4:1), n-heksan : etil asetat (3:2), n-heksan : etil asetat (2:3), n-heksan : etil asetat (1:4), kloroform : etil asetat (4:1), kloroform : etil asetat (3:2), kloroform : etil asetat (2:3), kloroform : etil asetat (1:4), dan metanol : kloroform (3:7) dielusi sebanyak 3 kali sebanyak 200 mL. Untuk mempermudah dan mempercepat proses elusi ditambahkan alat pemompa bertekanan. Ditampung fraksi yang keluar sebanyak  $\pm$  70 mL. Fraksi 1-17 dianalisis menggunakan KLT dengan plat silika Gel 60 GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksan : etil asetat (3:1). Fraksi 18-60 dianalisis menggunakan KLT dengan plat silika Gel 60 GF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform : metanol (9:1). Fraksi yang memiliki kromatogram yang sama digabungkan dan kemudian dipekatkan menggunakan evaporator. Fraksi kental yang didapatkan dianalisis aktivitas antioksidannya dan fraksi paling aktif antioksidan dianalisis dengan kromatografi preparatif.

**e. Kromatografi Preparatif**

Sebanyak 200 mg fraksi kental yg didapat dilarutkan dengan metanol *p.a* 1 mL, kemudian ditotolkan pada plat fase terbalik (C18) dengan fase gerak asetonitril:metanol:air (1:1:1). Hasil pemisahan dilihat pada lampu UV 366 dan

254, kemudian hasil pemisahan dikerok dan dimasukkan dalam kolom. Sampel dielusi dengan metanol:kloroform (3:7).

### Uji Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan diadopsi dari penelitian Rohman dan Riyanto (2006) dengan penangkapan radikal menggunakan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

a. Pembuatan larutan stok DPPH

Larutan stok DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,4 mM, ditimbang DPPH 15,77 mg kemudian dimasukkan dalam labu takar 100,0 mL. DPPH dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda pada labu takar 100,0 mL, labu takar dilapisi *aluminium foil*, dan larutan ini disimpan dalam wadah gelap di almari es.

b. Pembuatan larutan stok sampel fraksi etil asetat herba meniran dan vitamin E

Sampel fraksi etil asetat ekstrak etanol herba meniran dan vitamin E ditimbang 10,0 mg, kemudian dimasukkan labu takar 10,0 mL lalu ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda, disonikasi sampai homogen sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 0,1 % b/v.

c. Penentuan waktu inkubasi

Larutan stok DPPH 3,0 mL dimasukkan labu takar 5,0 mL ditambahkan 0,200 mL sampel 0,1 % b/v, kemudian ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda, *divorteks* selama 20 detik dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 571 nm. Interval pembacaan absorbansi 5 menit sampai didapatkan absorbansi yang stabil dan tidak menunjukkan adanya penurunan absorbansi

d. Penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) DPPH

Larutan stok DPPH 700  $\mu\text{l}$  dimasukkan labu takar 5,0 mL, ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda, kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 450-545 nm dengan menggunakan blangko 5,0 mL etanol *p.a*. Panjang gelombang maksimum diperoleh dari panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimum.

e. Penentuan  $IC_{50}$  fraksi etil asetat herba meniran dan vitamin E

Larutan stok sampel fraksi etil asetat ekstrak etanol herba meniran dan vitamin E dibuat dengan lima seri konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm dimasukkan kedalam labu takar 5,0 mL. Kemudian ditambahkan 700  $\mu$ l DPPH 0,4 mM dan ditambah etanol *p.a* sampai tanda. Kemudian disonikasi selama 20 detik dan diinkubasi selama waktu inkubasi.

Absorbansi sampel diukur dengan blanko etanol *p.a* pada  $\lambda_{maks}$ . Sampel dibandingkan dengan kontrol yang terdiri dari 700  $\mu$ l DPPH 0,4 mM dalam 5,0 ml etanol *p.a* sehingga didapatkan % aktivitas antiradikal.

Kurva regresi linier dibuat antara % aktivitas antiradikal melawan konsentrasi. Didapat rumus regresi linier dan ditentukan konsentrasi sampel pada aktivitas 50%. Percobaan uji aktivitas antiradikal direplikasi sebanyak tiga kali. Setiap sekali percobaan, pembuatan stok direplikasi sebanyak tiga kali dan pengenceran sampel direplikasi sebanyak dua kali.

### **Analisis Isolat menggunakan Spektroskopi NMR**

Untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam isolat maka fraksi yang lebih murni dan aktif dianalisis dengan menggunakan spektroskopi  $^1H$ NMR (500 Hz) dengan pelarut  $CD_3OD$ .

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan**

Ekstraksi herba meniran dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%, karena etanol 70% banyak menyari komponen fenolik dari suatu tanaman (Salonen, 2012). Hasil proses penyarian dan evaporasi herba meniran diperoleh ekstrak sebanyak 213,62 gram (rendemen                      ). Ekstrak etanol berpotensi antioksidan dengan  $IC_{50}$  sebesar 14,21 ppm (Widhiastuti, 2011). Fraksinasi dilakukan menggunakan metode enap tuang, dimana pelarut yang digunakan dengan kepolaran bertingkat yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol. Senyawa nonpolar akan melarut bersama pelarut nonpolar, senyawa semipolar akan melarut bersama pelarut semipolar, dan senyawa polar akan melarut bersama pelarut polar (Harbone, 1987). Hasil rendemen yang didapatkan adalah fraksi polar (etanol), fraksi semi polar (etil asetat), dan fraksi non polar (n-heksan) (Gambar4,

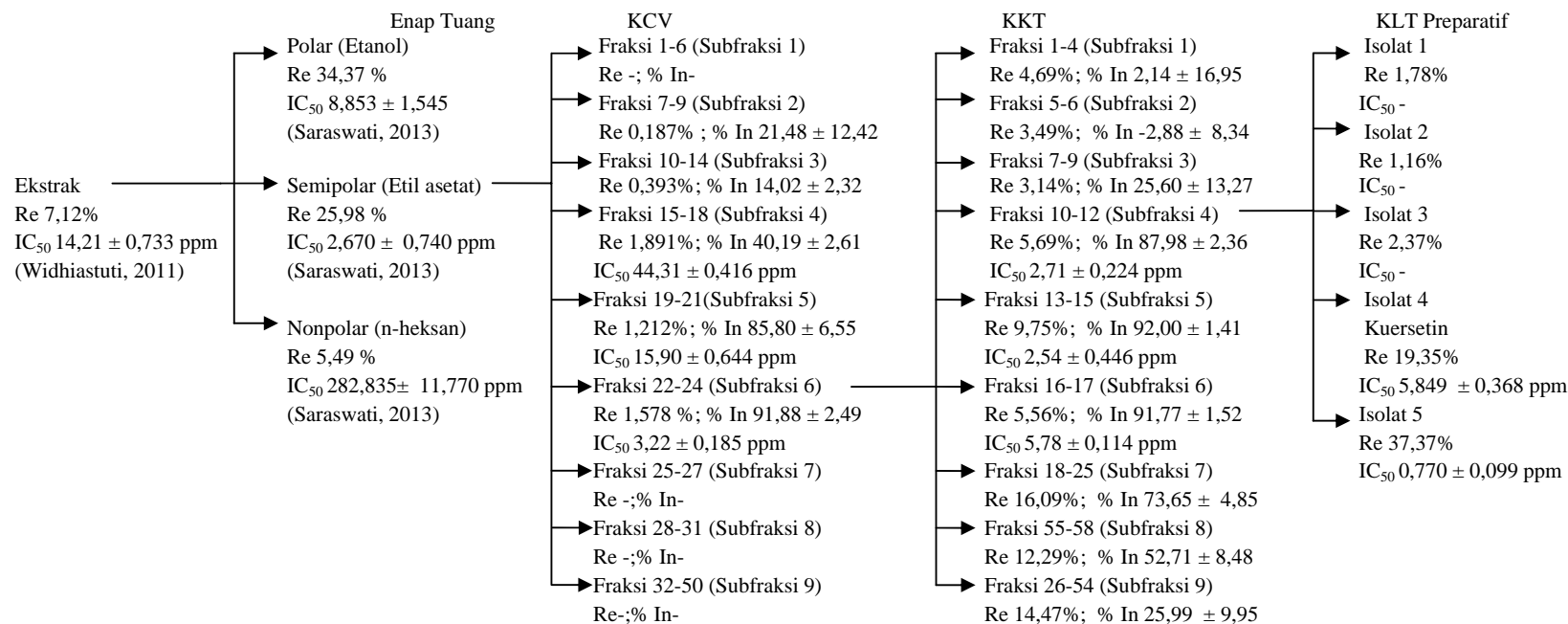


Lampiran 2). Berdasarkan penelitian antioksidan terhadap ekstrak etanol herba meniran oleh Saraswati (2013) disebutkan bahwa fraksi semipolar positif antioksidan dengan  $IC_{50}$  2,670 ppm dibandingkan dengan fraksi polar 8,853 ppm, dan fraksi non polar 282,835 ppm. Penelitian ini melanjutkan eksplorasi kandungan senyawa aktif antioksidan dengan isolasi menggunakan metode KCV, dilanjutkan KKT dan KLT Preparatif. Hasil fraksinasi dan isolasi senyawa aktif antioksidan diperoleh 5 senyawa isolat (Gambar 4).

Fraksi semipolar diisolasi menggunakan metode KCV dengan sistem fase gerak yang digunakan adalah kloroform:n-heksan (8:2), kloroform, kloroform:metanol (9:1), kloroform:metanol (8:2), kloroform:metanol (7:3), kloroform:metanol (6:4) dan n-heksan:etil asetat (5:5) masing-masing dielusi 3 kali sebanyak 350 mL dari pelarut nonpolar ke polar.

Metode KCV yang digunakan untuk elusi adalah gradien dengan tujuan mengubah polaritas fase gerak sehingga resolusi yang didapat semakin bagus dan dengan kromatografi fase normal dimana fase gerak lebih nonpolar dibanding dengan fase diam. Sehingga, bercak yang berada dibawah merupakan senyawa yang lebih polar karena tertahan oleh fase diam, bercak yang berada di tengah merupakan senyawa lebih semipolar, dan bercak di atas merupakan senyawa yang lebih non polar karena terbawa oleh fase gerak.

Hasil KCV diperoleh 58 tampungan dan dikelompokan sesuai dengan profil KLT diperoleh 9 subfraksi (Gambar 2). Contoh profil KLT dari hasil KCV menunjukkan pemisahan berdasarkan polaritas dari tiap senyawa (Gambar 3).



**Gambar 1. Alur Isolasi Kuersetin dari hasil maserasi ekstrak etanol 70% herba meniran dan dilanjutkan partisi dengan metode enap tuang, fraksinasi dengan KCV, dan fraksinasi lanjut dengan KKT serta pemurnian dengan KLT Preparatif.**

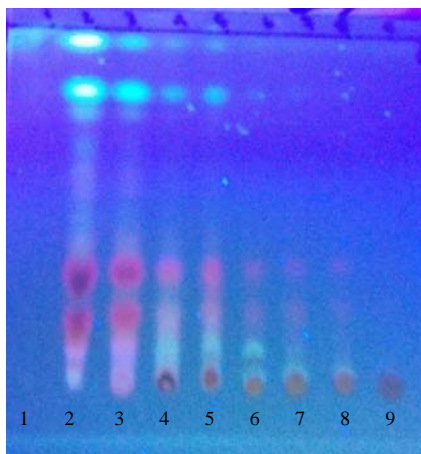
**Keterangan :** KCV : Fase gerak; kloroform:n-heksan (8:2), kloroform, kloroform:metanol (9:1), kloroform:metanol (8:2), kloroform:metanol (7:3), kloroform:metanol (6:4) dan n-heksan:etil asetat (5:5) dielusi 3 kali sebanyak 350 mL. Kolom silika katalog merck 7731

KKT : Fase gerak; n-heksan:etil asetat (4:1), n-heksan:etil asetat (3:2), n-heksan:etil asetat (2:3), n-heksan:etil asetat (1:4), kloroform:etil asetat (4:1), kloroform:etil asetat (3:2), kloroform:etil asetat (2:3), kloroform:etil asetat (1:4), metanol:kloroform (3:7) dielusi 3 kali sebanyak 200 mL. Kolom silika katalog 7731

KLT Preparatif : Isolat 1 dan 2 dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1), fase diam Silika GF<sub>254</sub> ; Isolat 3,4, dan 5 dengan fase gerak asetonitril:air:metanol (1:1:1), fase diam C18.

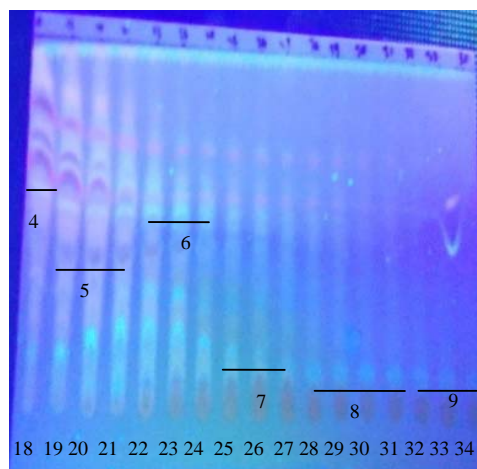
%In : % inhibisi (penangkapan radikal DPPH), KCV (konsentrasi 40 ppm), KKT (konsentrasi 20 ppm)

Re : Rendemen



**Gambar 2. Kromatogram pengelompokan sub fraksi hasil KCV ekstrak etanol herba meniran dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (3:1), fase diam Silika GF<sub>254</sub>, jarak pengembangan 5 cm, dan pendeteksi UV<sub>366</sub>.**

Subfraksi 1 tidak dilakukan uji aktivitas karena tidak adanya profil senyawa pada analisis KLT, sementara subfraksi 7-9 pada analisis KLT (Gambar 2) belum memisah sempurna sehingga tidak dilakukan uji aktivitas.

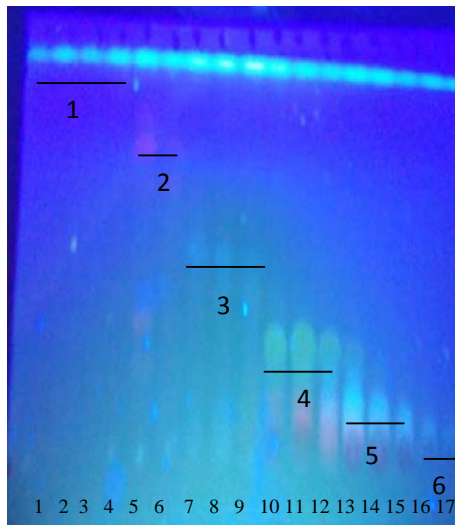


**Gambar 3. Contoh kromatogram hasil KCV fraksi semipolar ekstrak etanol herba meniran dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (9:1), fase diam Silika GF<sub>254</sub>, jarak pengembangan 5 cm, dan pendeteksi UV<sub>366</sub>.**

Pada gambar 3 menunjukan bahwa subfraksi yang didapat belum murni sehingga dilakukan tahap fraksinasi lanjutan. Subfraksi aktif (Subfraksi 6) diisolasi dengan metode KKT dengan fase gerak yang digunakan adalah n-heksan:etil asetat (4:1), n-heksan:etil asetat (3:2), n-heksan:etil asetat (2:3), n-heksan:etil asetat (1:4), kloroform:etil asetat (4:1), kloroform:etil asetat (3:2),

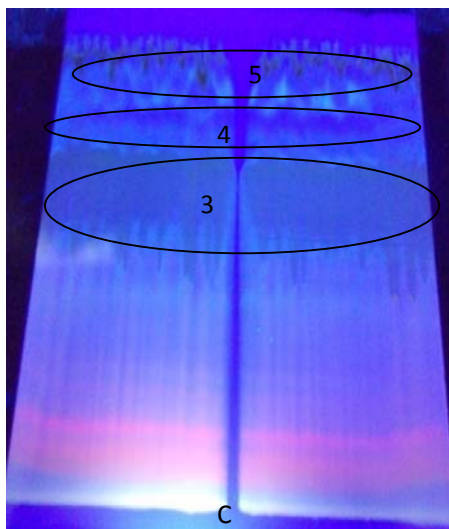
kloroform:etil asetat (2:3), kloroform:etil asetat (1:4), metanol:kloroform (3:7) masing-masing dielusi 3 kali sebanyak 200 mL dari pelarut nonpolar ke polar.

Hasil KKT diperoleh 60 tampungan dan dikelompokan sesuai dengan profil KLT diperoleh 9 subfraksi. Contoh profil KLT dari hasil KKT menunjukkan pemisahan berdasarkan polaritas dari tiap senyawa (Gambar 4).



**Gambar 4. Contoh kromatogram hasil KKT sub fraksi semipolar ekstrak etanol herba meniran sub fraksi 1-17 dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (3:1)), fase diam Silika GF<sub>254</sub>, jarak pengembangan 5 cm, dan pendeteksi UV<sub>366</sub> (profil lengkap pada lampiran)**

Hasil subfraksi KKT dilakukan uji antioksidan dan didapatkan fraksi paling aktif sebesar 2,71 ppm (Fraksi 4), kemudian dilakukan pemurnian isolat secara KLT preparatif dengan sistem fase gerak heksan:etil asetat (1:1) dan fase diam Silika GF<sub>254</sub> sehingga didapatkan 2 pita. Sisa pita yang belum memisah kemudian dielusi lagi dengan sistem fase gerak asetonitril:air:metanol (1:1:1) dan fase diam C18 sehingga didapatkan 3 pita (Gambar 5).



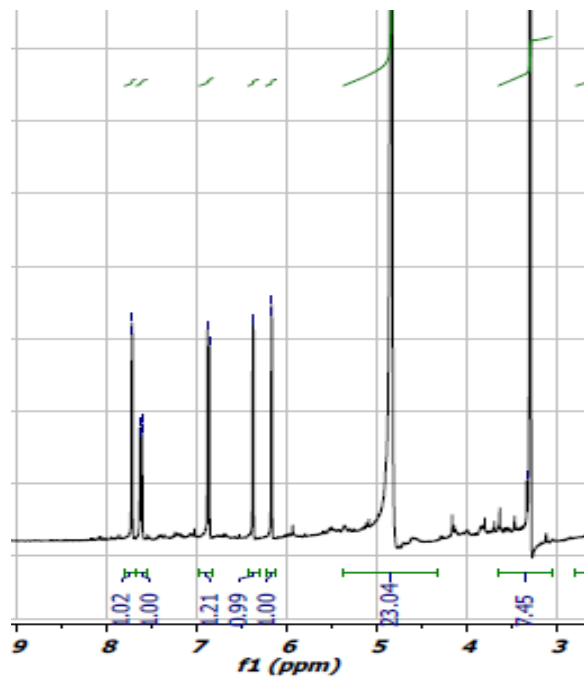
**Gambar 5.** Kromatogram hasil kromatografi preparatif sub fraksi semipolar ekstrak etanol herba meniran dideteksi dengan  $UV_{366}$  dengan fase gerak asetonitril:air:metanol (1:1:1) fase diam C18, dan jarak pengembangan 20 cm.

Isolat 4 (pita 4) yang didapat menghasilkan  $IC_{50}$  sebesar 5,849 ppm, isolat 5 (pita 5) menghasilkan  $IC_{50}$  sebesar 0,770 ppm sementara pembanding vitamin E  $IC_{50}$  sebesar 6,848 ppm.

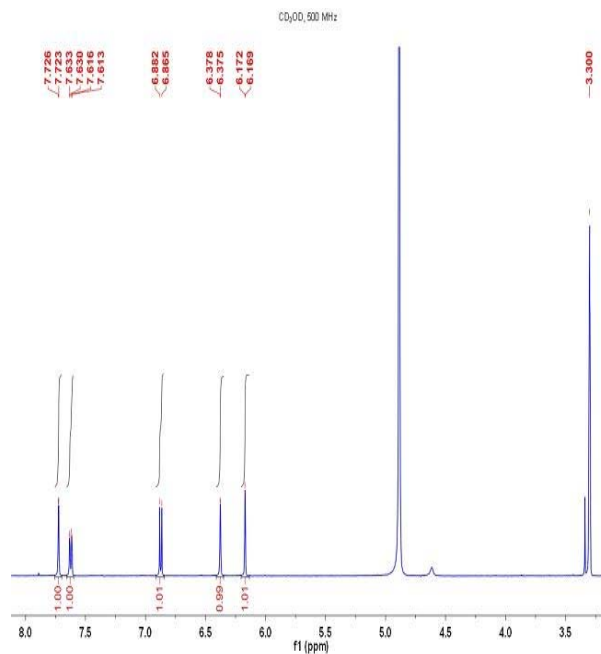
## **B. Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Isolasi dan Mekanisme Antioksidan**

### **1. Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Isolasi**

Hasil analisis isolat 4 fraksi semipolar ekstrak etanol herba meniran menggunakan spektroskopi  $^1H$ NMR (Gambar 6) menunjukkan kandungan senyawa kuersetin yang merupakan senyawa flavonoid dari golongan flavon dengan  $IC_{50}$  sebesar 5,849 ppm. Spektra  $^1H$ NMR kuersetin hasil isolasi menunjukkan kemiripan dengan spektra kuersetin hasil penelitian Foo., *et al.* (2000) (Gambar 7). Hal ini sesuai dengan penelitian Samali, *et al.*, (2012) yang menunjukkan bahwa *Phyllanthus niruri* mengandung komponen flavonoid.



Gambar 6. Spektrum <sup>1</sup>H NMR dari senyawa hasil isolasi fraksi etil asetat ekstrak etanol herba meniran

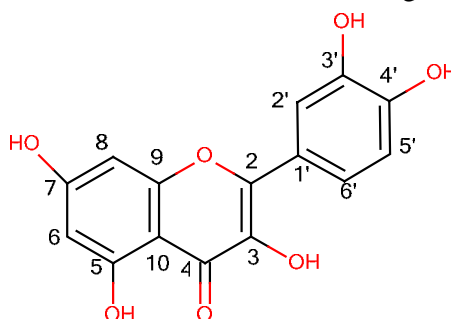


Gambar 7. Spektrum <sup>1</sup>H NMR dari senyawa kuersetin hasil penelitian Foo., *et al.* (2000)

Analisis  $^1\text{H}$ NMR dengan pelarut  $\text{CD}_3\text{OD}$  terhadap senyawa diperoleh :

posisi H	ppm
2'	7,728 (d,J = 2,6 Hz)
5'	6,879 (d,J = 10,60 Hz)
6'	7,617 (dd,J = 10,65 Hz, 2,65 Hz)
6	6,384 (d,J = 2,5 Hz)
8	6,177 (d,J = 2,5 Hz)

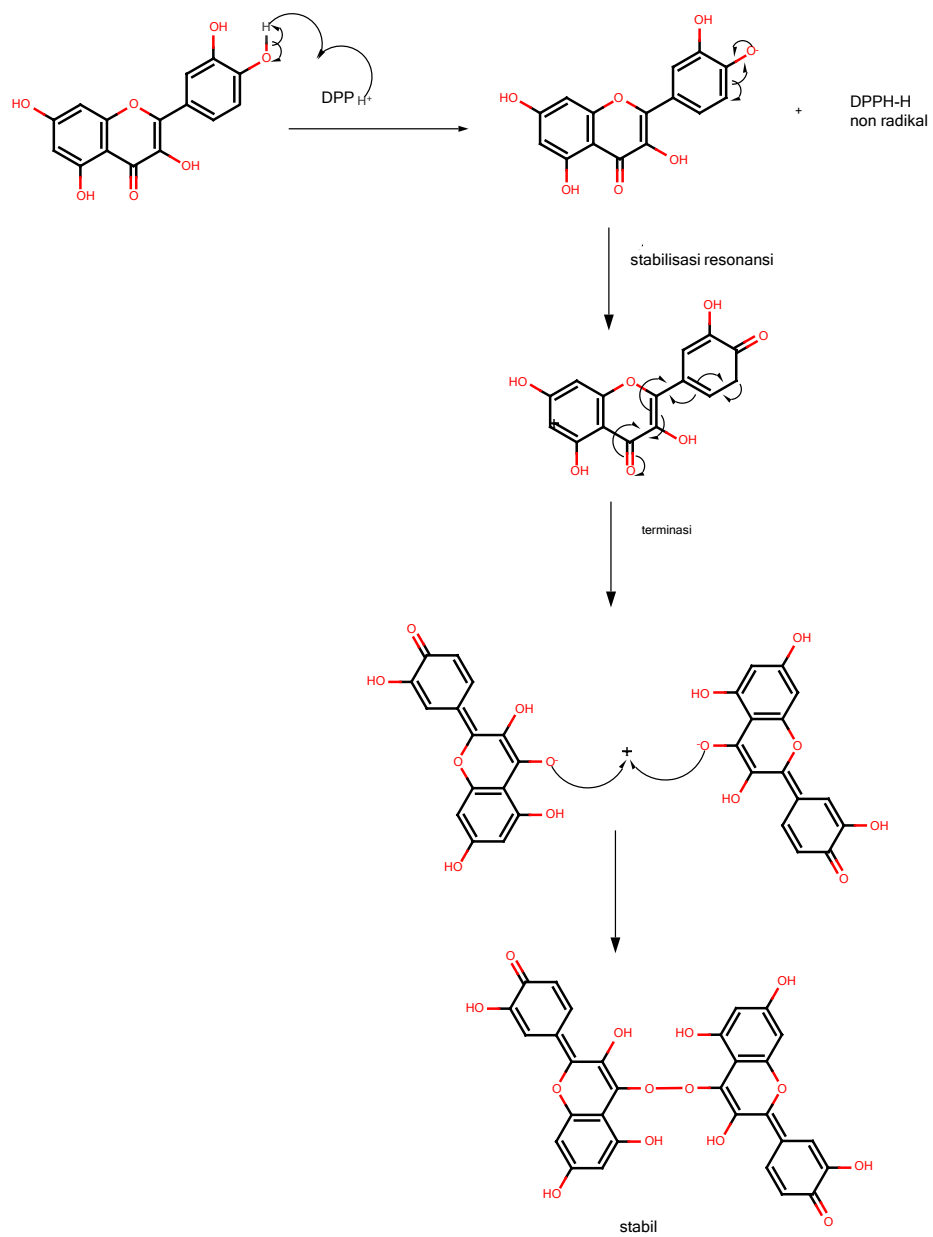
Struktur senyawa berdasarkan analisis  $^1\text{H}$ NMR sebagai berikut (Gambar 8)



Gambar 8. Struktur Kuersetin

## 2. Analisis dan Mekanisme Antioksidan

Mekanisme Antioksidan senyawa kuersetin (gambar 9) disebabkan karena kemampuan senyawa untuk mendonorkan atom hidrogen fenoliknya pada radikal DPPH menjadi DPPH-H yang diamagnetik sebab adanya elektron yang berpasangan. Pada keadaan diamagnetik DPPH-H akan menjadi tidak radikal bebas lagi (Gambar 9). Hasil donasi proton kuersetin akan diberikan pada radikal  $-\text{O} \cdot$  (4) kuersetin yang diikuti dengan reaksi terminasi kuersetin yang salah satunya diduga dari dimerasi kuersetin (Gambar 9). Mekanisme tersebut menyebabkan radikal mengalami stabilisasi dan kuersetin berperan sebagai antiradikal. Hasil donasi proton kuersetin akan diberikan pada radikal  $-\text{O} \cdot$  (4) kuersetin yang diikuti dengan reaksi terminasi kuersetin yang salah satunya diduga dari dimerasi kuersetin (Gambar 9). Mekanisme tersebut menyebabkan radikal mengalami stabilisasi dan kuersetin berperan sebagai antiradikal.



**Gambar 9. Reaksi Kuersetin dengan DPPH**



## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. Isolat fraksi etil asetat ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) berpotensi sebagai antioksidan dengan IC<sub>50</sub> sebesar 5,849 ppm dan 0,770 ppm sementara pembanding vitamin E sebesar 6,848 ppm.
2. Pada identifikasi <sup>1</sup>HNMR isolat fraksi etil asetat ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) menunjukkan adanya senyawa kuersetin dari golongan flavonoid.

### B. Saran

Aktivitas antiradikal yang tinggi pada hasil KKT subfraksi 5 maka diperlukan pemurnian lanjutan dan pada hasil KLT preparatif fraksi yang lain diperlukan identifikasi <sup>13</sup>CNMR dan uji aktivitas antiradikalnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmeda, A., Hossain, M.A., & Ismail, Z., 2009, Antioxidant Properties of the Isolated Flavonoids from the Medicinal plant *Phyllanthus niruri*, *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2 (03), 373-381.
- Amrun., M.H., Umiyah., & Evi, U.U., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, *Berk. Penel. Hayati*, 13, 45,
- Foo, L.Y., *et al.*, *Phytochemistry*, 2000, 54, 539-548,  
<http://www.wangfei.ac.cn/article/3/1/27> (diakses tanggal 24 April 2014).
- Hariyatmi, 2004, Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia, *MIPA*, 14, 1.
- Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan ke-2, Bandung, Penerbit ITB.
- Rohman, A. & Riyanto S., 2006, Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Kloroform Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Fraksi-fraksinya, *Artocarpus*, 6, (1).
- Samali, A., Florence, D. T., Odeniran, O. A., & Cordelia O.N, 2012, Evaluation of chemical constituents of *Phyllanthus niruri*, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6 (3), 125-128.

- Salonen, A., Saarnio, S., & Julkunen-Tiitto, R., 2012, Phenolic compounds of propolls from the boreal coniferous zone, *Journal of Apicultural science*, 56, 13-22.
- Saraswati, N, F., 2013, Profil Kandungan Senyawa dan Aktivitas Penangkap Radikal DPPH Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri* L.), *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Suirta, I.W., Puspawati, N.M., & Gumati, N.K., 2007, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida dari Biji Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Larva Nyamuk Demam Berdarah ( *Aedes Aegypti*), *Jurnal Kimia*, 1 (1), 47-54.
- Temple, N. J., 2000, *Antioxidants and Disease: More Questions Than Answers*, Athabasca University, Alberta T9S 3A3, Canada, *Journal of Elsevier Science*, 20, 449-459
- Widhihastuti, E., 2011, Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH serta Korelasinya dengan Kadar Fenolik pada Lima Jenis Herba Bahan Obat Alam Indonesia, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.